

紫背一點廣鎮痛抗炎作用 及其有效成分之研究

謝文聰 蔡輝彥 謝明村 * 陳介甫

中國醫藥學院藥理學科暨中國醫藥研究所

* 國立中國醫藥研究所

摘 要

紫背一點廣 *Nervilia purpurea* (HAYATA) SCHLETER 係為蘭科植物，生產於臺灣中海拔陰濕的山區，臺灣民間嘗用於抗炎、退癢及高血壓的治療物，但目前尚無藥理學之研究報告。本研究室曾於篩選試驗中，發現紫背一點廣全草50%酒精/水抽出物，具有抑制小白鼠對醋酸所誘發的扭體反應。故依其形態將紫背一點廣分成葉及球莖兩部分，分別以50%酒精水溶液抽取，抽取液再用溶媒進行分配分離，各得乙酸乙酯層、正丁醇層及水溶層等，葉之乙酸乙酯層經柱層析並經純化後得數個化合物，經進行藥理試驗，獲致結果如下：

一、紫背一點廣全草粗抽出物小鼠口服投與，求得半數致死劑量，高達15 g/kg，並未發現動物死亡的現象，其毒性顯現很低。二、紫背一點廣全草500 mg/kg對小鼠熱板誘發之痛覺無明顯抑制作用。三、葉之乙酸乙酯層對小鼠以醋酸所誘發的扭體反應抑制作用較大。四、紫背一點廣對於鹿角菜膠及福馬林等誘發大白鼠後足蹠浮腫試驗，具明顯抑制作用。其抗發炎作用，以葉之水層最強。五、葉之乙酸乙酯層以大白鼠皮膚視窗法進行試驗，發現能抑制前列腺素 E_2 所誘發的皮膚血管滲透性增加作用。而且對於小鼠福馬林誘發的舔足反應抑制作用較大。

根據實驗結果，紫背一點廣之鎮痛抗炎作用，可能是藉由抑制前列腺素等所產生的結果，其機理正進一步探討中。

關鍵詞：紫背一點廣，鎮痛，抗炎。

前 言

紫背一點廣 *Nervilia purpurea* (HAYATA) SCHLETER (NP) 係蘭科(Orchidaceae)植物，生長於台灣陰濕山區，全草曬乾供藥用，俗稱一點廣。民間嘗用於治療跌打損傷、肺炎、五癆七傷及高血壓⁽³⁾，可能具抗炎、退癢及高血壓

功效。雖然Namba等^(2,4)從事生藥學研究，Kikuchi等⁽⁵⁻¹¹⁾也發現具脂肪酸、三萜類化合物及其異構物，但目前尚無紫背一點廣之藥理學研究報告。經本研究室進行篩選驗，發現紫背一點廣全草粗抽出物，發現有良好的鎮痛作用，故本研究擬更進一步進行藥理機理與有效成分分子構造之探討，盼望能明瞭其作用之有效成分，裨益於藥物之開發。

材料及方法

一、藥材處理：

取新鮮紫背一點癩全草2.0公斤，將葉與球莖分開，分別以50%酒精水溶液抽取。抽取液經減壓濃縮、乾燥，得葉抽出物(NPL)及球莖抽出物(NPT)，以上抽出物分別加入適當水，用乙酸乙酯、正丁醇等進行分配分離。葉部分得乙酸乙酯層(LE)、正丁醇層(LB)及水層(LH)，球莖部分得乙酸乙酯層(TE)正丁醇層(TB)及水層(TH)(如圖一)。再取LE經柱狀層析，用正己烷、乙酸乙酯及丙酮等依序以不同比率沖滌，再分離純化其中成分。

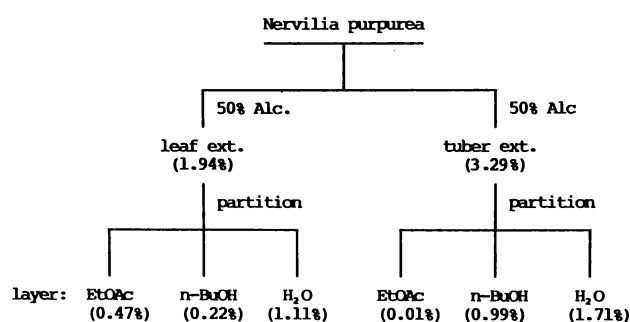


Figure 1

Fig. 1 Extraction scheme of of *Nervilis purpurea*.

二、急性毒性實驗

實驗係採 Litchfield 和 Wilcoxon 之方法⁽¹²⁾ 使用體重18-25 g ICR 系雄性小白鼠，NP(溶於生理鹽水)經口給藥後，連續觀察72小時，記錄其中毒及死亡情形，求得使小白鼠一半死亡之劑量及其95%可信度。

三、鎮痛實驗

1. 醋酸誘發小白鼠扭體反應

實驗則採 Taber 等修飾的方法⁽¹³⁾，使用體重18-25 g ICR 系雄性小白鼠，隨機分組，每組八隻，稱重後經腹腔投與 NP 0.1g/kg(除LE以0.5% tween 80 in saline 配製外，各分層皆以生理鹽水配製)，生理鹽水或100 mg/kg aspirin，一小時後經腹腔注射0.6%醋酸水溶液(0.1ml/10g)誘發扭體反應，經五分鐘後，觀察記錄小白鼠腹部因醋酸引起肌肉收縮所伴隨之扭體反應次數十分鐘，(5-15分間)。統計比較

投與生理鹽水組、給藥組及 aspirin 組之異差。

2. 小白鼠熱板法試驗

Woolfe 及 MacDonal 熱板法試驗方法⁽¹⁴⁾，使用體重18-25 g 雄性ICR小白鼠，將動物小白鼠放置在恆定溫度(55±0.5℃)之熱板鎮痛儀(Muromachi Kikai MK-350)，先測出未給藥小鼠之反應時間(以舔後足、甩後足或跳躍等為標準)，經廿分再測一次反應時間；二次反應時間差在五秒以內者，篩選出做為本實驗的動物。NP經腹腔投與。給藥前40、前20、0、20、40、60、及80分鐘，各測其受熱刺激之反應時間，觀察記錄並統計。

3. 福馬林誘發舔足反應

本福馬林誘發舔足反應實驗，採用經 Duboisson 及 Dennis 修飾後的方法⁽¹⁵⁾，使用體重18-25 g 之ICR系雄性小白鼠，隨機分組、稱重後經腹腔給NP，對照組則給與生理鹽水或 indomethacin 4mg/kg，經30分鐘後，用微量注射器以27號針頭在小鼠右後足背皮下注入20 μl 的1%福馬林，分別隔離觀察小鼠舔其右後足所花的時間，每五分鐘分段記錄結果一次，總共記錄30分鐘。小鼠在0~5分鐘有較明顯的舔右後腳反應。前階段稱前期，後階段稱後期，觀察記錄並統計之。

三、抗炎實驗

1. 皮膚視窗滲透性反應

本實驗採 Otani 及 Hugli 皮膚視窗試驗⁽¹⁶⁾，經修飾的方法，用體重150-225 g Sprague-Dawley 系雄性大白鼠，稱重分組後，經腹腔給與 NP、生理鹽水或抗炎劑，經25分鐘後，以 pentobarbital 30 mg/kg 體重腹腔注射麻醉，腹部毛以電動剃毛機小心剃除，在腹部皮膚上用筆標示六分區，給藥30分鐘後，由陰莖靜脈注入2% Evans blue (0.15/100g)，並在各分區皮內投予下列不同的致炎物質(platelet activating factor (PAF: 40 nM/site)，bradykinin (BK: 10 nM/site)，prostaglandin E₂ (PGE₂: 2 nM/site)，compound 48/80 (200 ng/site)，serotonin (5-HT: 1 nM/site)及生理鹽水。三十分鐘後犧牲之。取下直徑約20 mm的各分區滲藍皮膚，將之剪碎，並置於3 ml的0.5%硫酸鈉及7 ml的丙酮之混合液中萃取，經二十四小時後，以600g的速度離心二十分鐘(Kubata KA-1000)，小心傾出上清液，使用分光光度計(Bacharach coleman 35spec-

trophometer)在 620 nm 的波長下測其吸光度。

2. 對大白鼠後足蹠浮腫之影響

本實驗採 Winter, Rishe 及 Nuss (1962)⁽¹⁷⁾ 修飾的方法, 採用體重 180-225 g Sprague-Dawley 系雄性大白鼠, 經腹腔投與 NP 或 indomethacin 4 mg/kg, 對照組投與生理鹽水, 三十分鐘後, 以 50 μ l 1% 鹿角菜膠或 0.1% 血清緊素或 1% 福馬林注射入大白鼠後足掌皮下, 誘發足蹠浮腫後, 連續用體積變動記錄儀 (Plethysmometer, Ugo Basile 7150) 測得大白鼠後足蹠體積, 比較生理鹽水組、給藥組及 indomethacin 組之統計上之異差。

四、實驗結果之統計分析:

本研究結果的數據, 以 Unpaired Student's *t*-test 或 Paired Student's *t*-test 方法統計之, 以分析其間差異的顯著性, 凡 P 值小於 0.05 時, 則認為其差異具有統計意義。

結 果

一、急性毒性實驗

NP 對於 ICR 系雄性小日鼠口服投與半數致死劑量, 高達 15 g/kg, 且於此劑量未發現動物死亡的現象, 其安全性相當高。

二、鎮痛實驗

1. 醋酸誘發小白鼠扭體反應

在醋酸誘發小白鼠扭體反應的試驗中, NP 1.0 g/kg 劑量經腹腔投與, 並以 aspirin 100 mg/kg 對照下, NPL、LPT 皆具鎮痛作用 (圖二.A)。對各分層經減低劑量進一步試驗, 在 100 mg/kg 劑量下, 以 LE 對扭體反應抑制百分率為最高 (圖二.B)。並由實驗得知投與 0.5% tween 80 in saline 組與生理鹽水組, 對於醋酸誘發扭體反應並無統計異差, 以後統計皆以生理鹽水組為對照組。由於 LE 對醋酸誘發小白鼠扭體抑制作用最強, 故以 25, 50, 100 mg/kg 三種劑量經腹腔投與, 得知 LE 對扭體抑制作用, 具劑量依存性 (如圖三)。

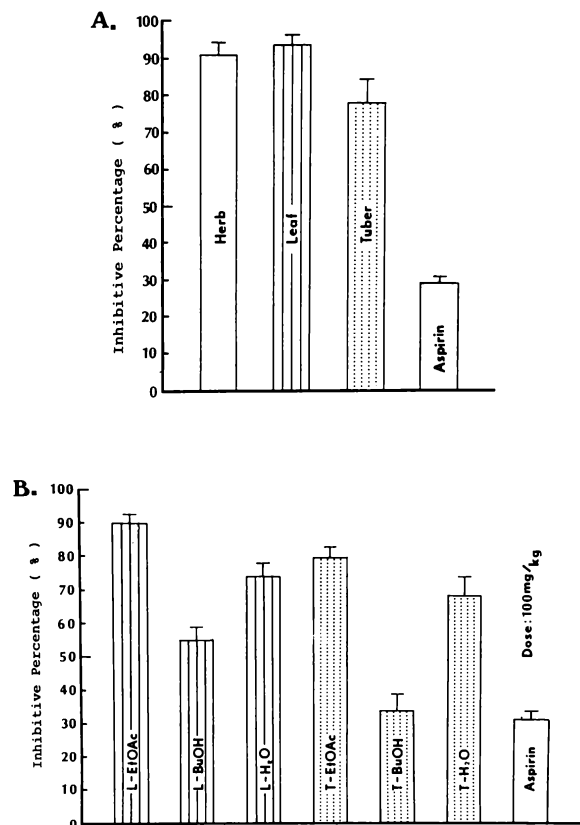


Fig. 2 Analgesic effect of *Nervilia purpurea* (NP) on acetic acid-induced writhing response in mice. A.-Crude extracts of herb, leaf and tuber (100mg/kg, ip). B.-Individual layer or leaf (L) and tuber (T) of NP. Agents were administered intraperitoneally at 100 mg/kg 30 minutes before acetic acid injection (n=8).

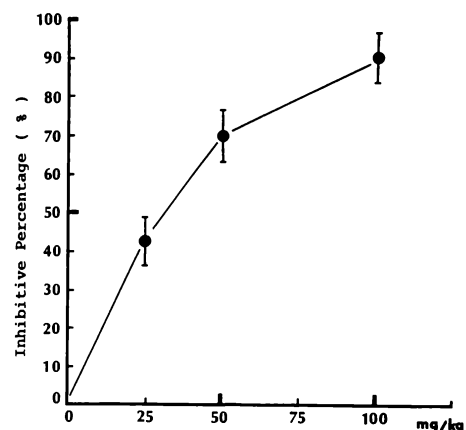


Fig. 3 Dose-response curve of leaf ethyl acetate layer on acetic acid induced writhing response in mice. Inhibition of writhing response is shown as inactive crease percentage in comparison to the control group value. Each point represents the mean $\pm$ S.E. (n=8).

2. 小白鼠熱板法試驗

NP 500 mg / kg 經腹腔投與，對小白鼠傳導熱所誘發的疼痛所產生的反應時間無延長作用。

3. 小白鼠馬法誘舔足試驗

NP、NPL及NPT各經腹腔投與 20, 50, 100 mg / kg 三種劑量，各組對福馬林誘發舔足的前期反應時間無明顯抑制作用，僅NPL於 100 mg / kg 劑量下抑作用才達有異差(圖四.A)，對於後期舔足時間各分層皆呈現抑制作用，尤其以NPL作用最強(圖四.B)。進一步發現，葉及球莖各分層對前期舔足時間，與對照組比較未達有異差；對於後期舔足時間，LE 顯現大幅縮短，LE次之，且兩分層對時間縮短作用皆具藥效劑量依存性(圖五)。於是進一步將LE以層析法分離純化，得 β -sitosterol, stigmasterol, linoleic acid, linolenic acid, palmitic acid, L-norlucine 及 phytol。此七種化合物以 100 mg / kg 劑量腹腔投與，對福馬林法誘發小鼠舔足後期反應時間，發現 β -sitosterol、palmitic acid、stigmasterol及L-norlucine皆呈現抑制作用(圖六)。從LE不溶部分得兩結晶物NP-3及NP-6 100 mg / kg 對前期及後期舔足時間無明顯抑制作用。

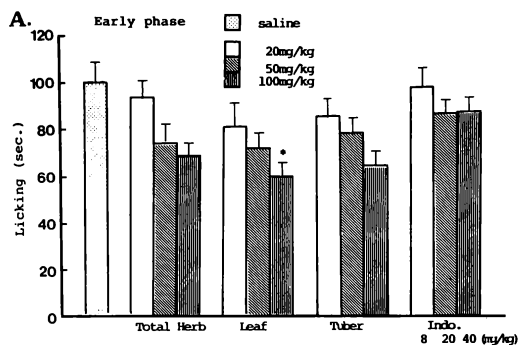


Figure 4(A)

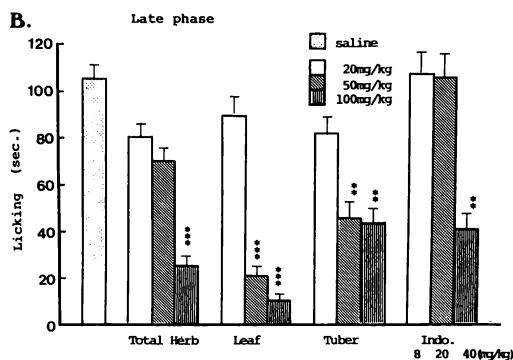


Figure 4(B)

Fig. 4 Antinociceptive effects of NP extracts administered intraperitoneally in the formalin test in mice. A.-Nociceptive response in the early phase (0-5minutes after formalin injection). B.-the late phase (15-30 minutes after formalin injection). Significant differences between saline and test drug groups are indicated by * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, and *** $P < 0.001$.

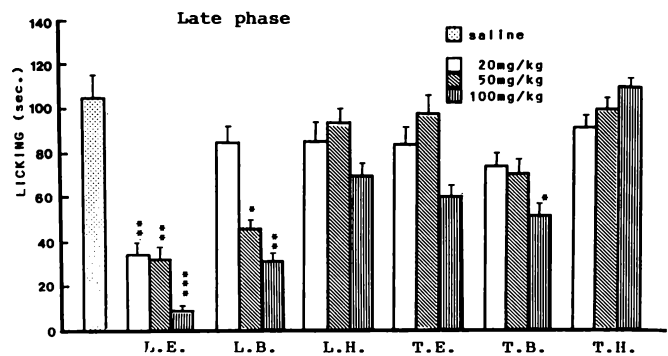


Fig. 5. Antinociceptive effects of intraperitoneal administration of each fraction of leaf and tuber of NP in the formalin test in the late phase (15-30minutes after formalin injection) in mice. Significant differences between saline and test drug groups are indicated by * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, and *** $P < 0.001$.

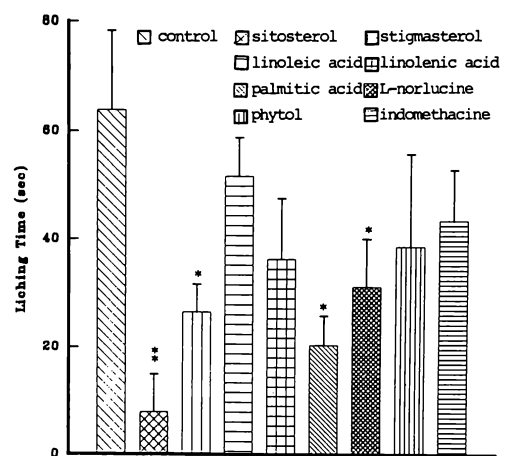


Fig. 6 Antinociceptive effects of seven compounds of leaf ethylacetate layer administered intraperitoneally at 100 mg / kg in the formalin injection in late phase in mice. Each bar represents the Mean $\pm$ S. E. (n=8). Significant differences between saline and test groups are indicated by * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$.

三、抗炎實驗

1. 血管滲透性亢進之皮膚視窗試驗

LE 50 mg / kg 腹腔給與對 PGE_2 (2nM / site)所造成的皮膚血管滲透性亢進作用有明顯的抑制，LE 200 mg / kg高劑量對 compound 48 / 80所造成的皮膚血管滲透性亢進才有制作用；TH對前列腺素 E_2 與血小板活化因子，誘發

的皮膚血管滲透性亢進有明顯抑制作用，並具劑量依存性。各分層對於緩動素(BK 5nM / site)，血清緊素(5-HT 1nM / site)所造成的皮膚血管滲透性亢進皆抑制作用(圖七)。

2. 大白鼠後足蹠浮腫

NP經腹腔投與，對血清緊素誘發浮腫作用抑制甚小(圖八.A)，對福馬林誘發浮腫NP 1.0 g / kg 劑量才具抑制作用(圖八.B)；對於鹿角菜膠所誘發浮腫，NP具藥效劑量依存抑制作用(圖八.C)。進一步以鹿角菜膠誘發浮腫模式，並在indomethacin(4 mg / kg ip)比對下，得各分層中浮腫抑制作用以LE最強，並具藥劑量依存性(圖八.D)。

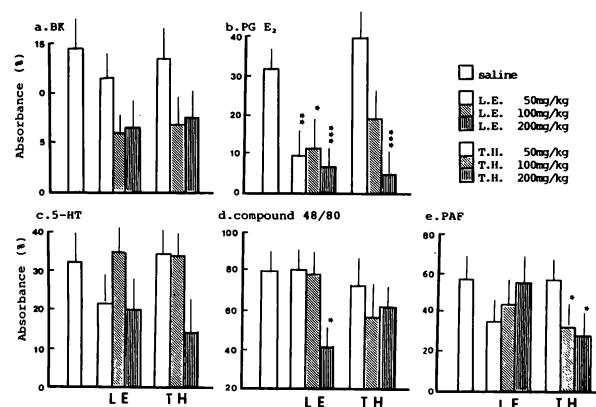


Fig. 7 The effect of leaf ethyl acetate layer (LE) and aqueous layer (LH) of NP in skin window test. The plasmaextravasation response caused by a. bradykinin (BK 10 nM / site), b. prostaglandin E_2 ($PG E_2$ 2 nM / site), C. serotonin (5-HT, 1 nM / site) d. compound 48 / 80 (200 ng / site), e. platelet activating factor (PAF 40 nM / site) in rats. Histograms represent the mean $\pm$ S.E. (n=8). Asterisks represent significance levels compared with saline group. *P<0.05, **P<0.01, and ***P<0.001.

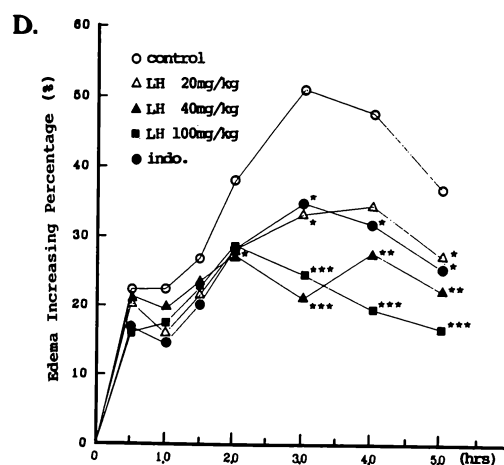
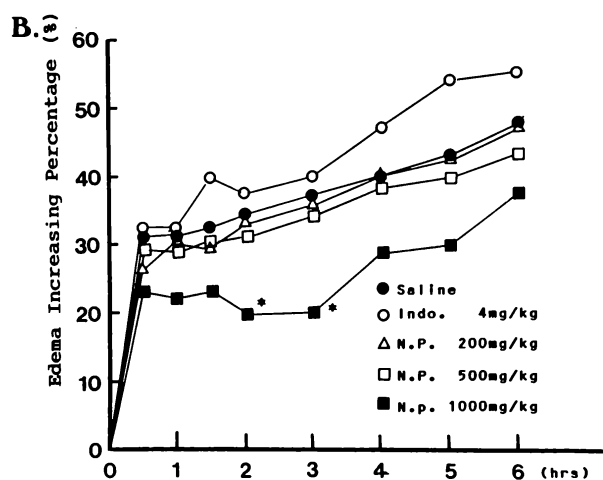
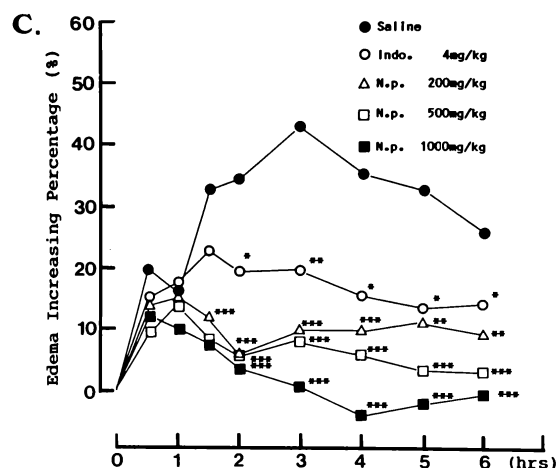
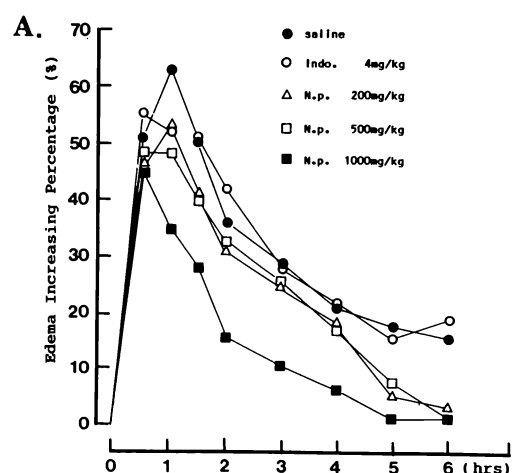


Fig. 8 Inhibition of hindpaw edema effect of NP. Inflammatory mediators-induced edema by formalin (Fig. 8.A), serotonin (Fig. 8.B), and carrageenin (Fig. 8.C) in rats (n=7). The leaf aqueous layer (LH) showed a marked inhibition in carrageenin-induced edema, and had a dose-dependent effect (Fig. 8.D). Each point represents increase ratio (%) of the mean of volume. Asterisks represent significance levels from Student's t-test. *P<0.05, **P<0.01, ***P<0.001, as compared with saline group.

討 論

一般引起疼痛反應的刺激種類，可分機械、溫熱、電氣及化學的刺激等。鎮痛活性物質的動物實驗評價方法，係比擬上述疼痛產生的刺激模式。Woolfe 及 MacDonald⁽¹⁴⁾以熱板為使小白鼠受熱疼痛的動物實驗模式。Randall 及 Selitto⁽²¹⁾以酵素(yeast)懸浮液注射入大白鼠足蹠，為產生疼痛的動物實驗模式。Siegmund⁽¹⁸⁾ Collier⁽¹⁹⁾ 及 Taber⁽²⁰⁾等人則發展及研究化學物質刺激動物，產生腹肌收縮(扭體反應)的動物實驗模式。Dubuission 及 Dennis⁽¹⁵⁾用福馬林注射入貓或大白鼠足蹠背部皮下，產生雙相的疼痛舔腳反應，Hunnskaar⁽²²⁾用小白鼠實驗，認為福馬林造成舔腳反應，可有效評估性鎮痛藥物活性及可能藥理作用。醋酸扭體實驗是以化學物質刺激化學敏感型接受體使動物疼痛而產生扭體反應，鴉片類與內甞汰類等神經性鎮痛物質及固醇類與非固醇類周邊性鎮痛抗炎物質皆可抑制此扭體反應⁽¹⁸⁾，此實驗模式可篩檢出大部分鎮痛物質⁽¹⁵⁻¹⁷⁾。本實驗結果得知，LE對小白鼠醋酸所誘發的扭體反應抑制作用最大，其有效成分可能存在此分層，但由於醋酸扭體法無法區分藥物止痛作用是屬於神經性痛覺抑制或是周邊性致痛物質產生的阻斷，故必需進一步研究。

熱板鎮痛實驗法是用加熱板藉傳導熱，使小鼠足部因熱刺激，產生疼痛而有舔足、甩足或跳躍等反應。根據 Woolfe 及 MacDonald⁽¹⁴⁾表示，鴉片類中樞止痛藥物對此方法有抑制作用，對於 aminopyrine 極高劑量才具抑制作用，aspirin 並不具抑制作用。故藥物如能抑制此反應，顯示可能具有神經性的鎮痛作用。根據實驗結果顯示，經腹腔給藥 NP 500 mg / kg，對於小鼠因熱板誘發之痛覺反應無抑制作用，顯示其鎮痛作用可能非神經性痛覺抑制。

福馬林舔足反應是誘導疼痛的比較理想模式⁽²²⁻²⁶⁾，小白鼠足蹠背部皮下以 1% 20 μ l 福馬林所誘發的疼痛而舔足，疼痛愈強則舔足時間愈長，此刺激呈現兩期比較強烈舔足反應，稱為前期與後期，前期時間為 0~5 分鐘，後期時間為 15-30 分鐘。所誘導出來的致痛物質，在前期可能為神經傳遞物質 substance P 等⁽²⁵⁾，據 Dickenson⁽²⁶⁾等表示福馬林增加產生高頻放

電(22 Hz high frequency discharge)，據 Heapy⁽²⁷⁾表示福馬林主要使 C-神經纖維活化，為神經性的疼痛。後期為福馬林造成細胞傷害，促使組織胺、血清緊素、前列腺素及緩動素等內生化學物質的產生⁽²⁵⁾，並刺激化學敏感性傷害痛覺接受體，活化 C 型-神經纖維，增加產生低頻放電(12 Hz low frequency discharge)間接引起痛覺神經的訊息的傳遞⁽²⁶⁾。NP 抑制小白鼠福馬林誘發的前期舔足反應時間作用很小，顯示其鎮痛作用可能非神經性痛覺抑制作用。而對於後期舔足反應時間，NPL 及 NPT 皆呈現抑制作用，其中以 LE 抑制作用最強，經進一步分析，發現 β -sitosterol、palmitic acid 及 L-norlucine 等具有抑制後期舔足時間的作用，根據 Gupta⁽²⁸⁾報告 β -sitosterol 具有抗炎及解熱作用，抑制後期舔足時間是否也是經由此作用則須更進一步研究。

炎症在外觀上看到的徵候是發紅、腫脹、熱感，及血管通透性增加大量的血管蛋白質等向血管外滲出引起浮腫，這些都是以局部微小循環系為中心而引起的生體反應。一般炎症的血管透過性亢進呈現二相性，即時相為組織胺及相關物質所引起⁽²⁹⁾；遲延持續相的血管透過性亢進與血漿系的 Kinins 類物質及組織的前列腺素類物質相關。Rebuck⁽³⁰⁾等發現血管滲透性亢進現象，直接觀察動物皮下層就能得知。在皮膚視窗血管滲透性亢進實驗，大白鼠腹部皮內注射各種致炎化學媒介物質如組織胺、緩動素、前列腺素 E₂ 及血小板活化因子和促使發炎化學媒介物質釋放化合物 compound 48 / 80。組織胺、緩動素和 PAF 已知具有很強的血管透過性亢進作用⁽³¹⁻³⁷⁾。Compound 48 / 80 已知可以使肥大細胞脫顆粒化而釋出組織胺及血清緊素引起血管透過性亢進⁽³⁸⁾。我們實驗結果顯示，LE 對前列腺素 E₂ 產生皮膚血管滲透性亢進作用有抑制作用；對於血小板活化因子引起皮膚血管滲透性亢進作用能受到 TH 的抑制，其他各分層對 compound 48 / 80，緩動素，組織胺所誘發的皮膚血管滲透性亢進作用沒有制作用。這些結果顯示 LH 抗炎作用與前列腺素 E₂ 有密切關係，LH 抗炎作用可能與血小板活化因子有關，而與緩動素，血清緊素，組織胺關係較不密切。

以致炎劑促使老鼠後足蹠浮腫實驗，是抗炎藥物研究常被廣泛使用的模式。血清緊素

是種強的微細血管擴張物質，直接引起血管通透性亢進，造成局部性浮腫。大白鼠足蹠經皮下注射後30分鐘左右浮腫最強，實驗結果顯示NP高劑量對血清緊素引起的足蹠浮腫沒有抑制作用，紫背一點癩可能不具拮抗血清緊素的作用。用福馬林注入大白鼠後足蹠皮下直接引起痛覺神經的訊息的傳遞產生疼痛，繼而造成細胞傷害，促使組織胺、血清緊素、緩動素等內生性生化物質產生⁽²²⁾，這些物質會引起血管通透性亢進，造成局部組織浮腫。NP高劑量時，對大白鼠福馬林誘發足蹠浮腫才具有意義的抑制，紫背一點癩可能僅具抑制部分致炎物質作用。鹿角菜膠所引起的足蹠浮腫，據文獻指出其過程可以明顯的出現雙相性，在不同的時間有不同的致炎化學媒介物放出，鹿角菜膠注射後90分鐘內是組織胺與血清緊素釋出，90分鐘至150分鐘是Kinin系類物質，150分鐘以後則是前列腺素類及白三烯類(leukotrienes)產生⁽³⁹⁻⁴⁵⁾。實驗結果顯示，葉水層對於鹿角菜膠所誘發的浮腫抑制作用最強，於注射後90分鐘開始呈現抑制效果，其作用可達五小時以上。由上述足蹠浮腫的實驗結果顯示，LH的抗發炎作用與發炎化學媒介物前列腺素及白三烯類的關係較密切，而組織胺、血清緊素及緩動素的重要性較低。

從實驗結果顯示，紫背一點癩於熱板法及福馬林前期舔足時明無顯鎮痛作用，對於醋酸扭體法及福馬林後期舔足時間呈現明顯鎮痛作用，顯示其鎮痛作用主要是抑制周邊痛覺物質的作用，並非中樞神經的抑制。再由皮膚視窗法及鹿角菜膠浮腫法進一步顯示紫背一點癩可能具抑制前列腺素，而具有鎮痛與抗炎作用，主要有效作用成分在葉的水溶部分，其進一步作用機理與其作用成分正進一步探討中。

參考文獻

1. Kan WS: Pharmaceutical Botany, National Research Institute of Chinese Medicine, Taipei, 1981 ; 657-658. (in Chinese)
2. Namba T, Lin CC, Kikuchi T and Kan WS: Shoyakugaku Zasshi, 1981;35(2) : 138-144
3. Namba T, Lin CC and Kan WS: Shoyakugaku Zasshi, 1981;35(2) : 145-152
4. Namba T, Lin CC Kan WS: Shoyakugaku Zasshi, 1981;35(2) : 153-156
5. Kikuchi T, Kadota S, Hanagake S, Suehara H, Namda T, Lin CC and Kan WS: Chem. Pharm. Bull, 1981;29(7) : 2073-2078
6. Kikuchi T, Kabota S, Suehara H and Skhima T: Chem. Pharm. Bull, 1985;33(5) : 1914-1929
7. Kikuchi T, Kabota S, Suehara H and Namda T : Chem. Pharm. Bull. 1985;33(6) : 2235-42
8. Kikuchi T, Kadots S and Shima T: Chem. Pharm. Bull. 1985;33(6) : 2069-610
9. Kikuchi T, Kadota S and Shima T: Tetrahedron letters, 1985;26(32) : 3817-3820
10. Kikuchi T, Kadotea S, Suehars H and Namda T: Tetrahedron letters 1985;22 : 465-8
11. Kikuchi T, Kadota S, Suehara H and Namda T: Chem. Pharm. Bull., 1982; 30(1) : 370-3.
12. Litchfield JT, and Wilcoxon FA: Pharmacol. Exp. Ther. 1949;96 : 99-113.
13. Berkenkopf JW, and Weichman BM : Prostaglandins 1988 ; 36(5) : 693-700.
14. Woolfe G, and Mac Donald AD: J. Pharmacol. Exp. Ther. 1944 ; 80 : 300-7.
15. Dubuisson D and Dennis SG: Pain 1977 ; 4 : 161-74
16. Otani A and Hugli TE: Inflammation, 1977 ; 2 : 67-82
17. Winter CA, Risley EA and Nuss GW: Proc. Soc. Biol. N. Y. 1962 ; 111 : 544-7
18. Siegmund E, Cadmus R and Lu G: Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 1957 ; 95 : 729-31
19. Collier HOJ, Dinneen LC, Johnson CA and Schneider C : Br. J. Pharmacol. Chemother. 1968 ; 32 : 295-310
20. Taber RI, Greenhouse DD, Rendell JK and Irwin S: J. Pharmacol. Exp. Ther. 1968 ; 69 : 29-37
21. Randall LO and Swlitto JJ: Ardh. int. Pharmacodyn. 1957 ; 111 : 409-19
22. Hunskaar S and Hole K: Pain, 1987 ; 30 : 103-14
23. Hunskaar S, Fasmer OB and Hole K : J. Neurosci. Methods. 1985 ; 14 : 69-76
24. Helen WA, Frand P and Alan C: Pain, 1990 ; 40 : 229-38
25. Shibata M, Okubo T, Takahashi H and Inoki R: Pain, 1989 ; 38 : 347-52
26. Dickenson AH, and Sullivan AF: Pain, 1987 ; 30 : 349-60
27. Heapy CG, Jamieson A and Russel NJW : Br. J. Pharmacol. 1987 ; 90 : 164
28. Gupta MB, Nath BR, Srivastava N, Kishor

- K and Bhargava KP: *Planta Medica*, 1980 ; 39 : 157-63
29. Sedgwick AD and Willoughby DA : (Bonta IL, Bray MA, Parngam MJ, eds.) *Flsever*, 1985 ; 27
30. Rebuck JW and Crowly JH : *N.Y. Acad. Sci.* 1955 : 59 : 757-805
31. Kumakura S, I and Tsurufuji S: *Br J Pharmacol.* 1988 ; 93 : 739-46
32. Hwang SB, Lam MH, Li CL and Shen TY: *Eur J. Pharmacol.* 1986 ; 120 : 33-41
33. Bjork J and semedegard G: *Eur. J. Pharmacol.* 1983 ; 96 : 87-92
34. Rebuck JW: *AM. J. Clin. Pathol.* 1983 ; 79 : 405-13
35. Sparrow EM and Wilhelm DL: *J. Physiol.* 1957 ; 137 : 51-6
36. David MH and Christopher C: *Am. J. Pathol.* 1987 ; 126 : 423-31
37. Margaret CF and Loris AC: *J. Pharm. Pharmacol.* 1988 ; 41 : 46-9
38. Paton WDM: *Br. J. Pharmacol.* 1951 ; 6 : 499-504
39. Vinegae R, Schreiber W and Hugo R: *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 1969 ; 166 : 96-103
40. Rosa DM: *J. Pharm. Pharmac.* 1972 ; 24 : 89-102
41. Vinegar R, Truax JF and Selph JL: *Proc. Exp. Biol. Med.* 1973 ; 143 : 711-19
42. Vinegar R, Truax JF and Selph, JL: *Fedwea-tionProc.* 1976 ; 35 : 2447-56
43. Katori M, Ikeda K, Harada Y, UchidaY, Tanaka A and Ohi-Ishi A, *Agents and Actions*, 1978 ; 8 : 108-13
44. Vinegar R, Truax JF, Selph JL and Voelker FA: *Federation Proc.* 1982 ; 41 : 2588-95
45. Harada Y, Tanaka K, Uchida Y and Ueno A, Oh-Ishi A, Yanashita A, Ishidashi M, Miyazaki Hand Katori M: *Prostaglandins*, 1982 ; 23 : 881-95

STUDIES OF *NERVILIA PURPUREA* AND ITS EFFECTIVE COMPOUNDS ON ANALGESIC AND ANTI-INFLAMMATORY EFFECTS

Wen-Tsong Hsieh, Huei-Yann Tsai,
Ming-Tsuen Hsieh and*Chieh-Fu Chen

*Department of Pharmacology, Institute of Chinese Medical and
Pharmaceutical sciences, China Medical College,
National Research Institute of Chinese Medicine,

Nervilia purpurea (HAYATA) SCHLEGGER, an herb of Orchidaceae, is found in Cool wet mountain areas of Taiwan. It has been used as a folk medicine in Taiwan for treatment of external injuries (such as bruises), weakness, pneumonia and hypertension. However, there are few reports about its pharmacological effects. In preliminary study, we found the crude extract of NP markedly inhibited the writhing response in mice induced by acetic acid. In this study, we separated the herb into two portions (leaf and tuber), and extracted with 50% ethanol by reflux, respectively. Each extract was separated with various solvents to produce six layers and included some compounds. We attempted to explore the pharmacological properties with those layers and compounds. The following results were obtained. (1) The lethal dose 50 (LD_{50}) of NP crude extract was higher than 15 g/kg, orally. (2) The crude extracts of NP did not inhibit the nociceptive effect that was induced by hot plate. (3) The ethyl acetate layer of NP could inhibit acetic acid-induced writhing response. (4) The crude extract of NP could inhibit the inflammatory edema induced by carrageenin and formalin. The anti-inflammatory action of the aqueous layer of the leaf is the most effective. (5) The ethyl acetate layer of leaf inhibited the skin permeability induced by PGE_2 in the skin windows test and inhibited the licking response in the formalin test.

From the above results, we suggest that the analgesic and anti-inflammatory effects of NP may be related to the inhibition of prostaglandins.